

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA ESPERMATOZOIDES DE BOS TAURUS Y BOS INDICUS DETECTADOS EN EL MOCO VAGINAL DE VACAS REPE- TIDORAS HOLSTEIN MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

T E S I S

Que para obtener el título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
JAVIER CALDERON MUÑOZ DE COTE



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA ESPERMATO-
ZOIDES DE Bos TAURUS Y Bos INDICUS DETEC-
TADOS EN EL MOCO VAGINAL DE VACAS REPE-
TIDORAS HOLSTEIN MEDIANTE INMUNOFLUO-
RESCENCIA INDIRECTA.**

TESIS PROFESIONAL

JAVIER CALDERON MUNOZ DE COTE

México, D. F.

1977

*Este trabajo fue realizado en
el Departamento de Virología e
Inmunología de la Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootec-
nia, siendo asesorado por los:*

M.V.Z. Aurora Velázquez Echegaray

M.V.Z. Juan Garza Ramos

M.V.Z. Javier Valencia Méndez.

AGRADEZCO LA COLABORACION PRESTADA PARA LA REALIZACION
DE ESTE TRABAJO A:

BEATRIZ BENAVIDES DE UNZUETA, Q.B.P.

LUIS JARAMILLO BOLANOS, M.V.Z.

SR. MOISES FRAIRE CACHON

A MIS PADRES

I N D I C E

Pag.

INTRODUCCION 1

MATERIAL Y METODOS 5

RESULTADOS Y DISCUSION 11

RESUMEN Y CONCLUSIONES 23

BIBLIOGRAFIA 26

INTRODUCCION

En México el ganado especializado en la producción de leche está representado por 984,650 animales, de los cuales el 89% corresponde a la raza Holstein, el 7% a la Suiza, 1% a la Jersey, 1% a la Guernsey y el 1% a la Ayrshire (11). La tasa anual de reemplazo en este ganado es en promedio de un 33% (24) y está determinada por diversos factores, los principales son: Trastornos reproductivos, que contribuyen con el 58.89%, enfermedades infecciosas en un 13.1%, incosteabilidad económica en un 7.88% además de otros factores (24). Dentro de los trastornos reproductivos que afectan a las explotaciones bovinas lecheras, está la infertilidad (24,26), que representa un 45.9% de las causas totales de desecho, lo que produce grandes pérdidas al ganadero y que finalmente repercute en la economía del país. Estas pérdidas están ocasionadas por un periodo interparto mayor del normal, que se traduce en un periodo abierto muy prolongado, menor número de crías, menor producción láctea, así como gastos en-

alimentación, servicios médicos y de inseminación.

México en 1976, importó 34,385 animales de razas-lecheras, de los cuales 34,281 correspondieron a terneras próximas al parto (11) y que en su mayoría fueron utilizadas como animales de reemplazo. En ese entonces el precio individual oscilaba alrededor de 10,000 pesos. Con el cambio de paridad sufrido por el peso a fines de 1976, el costo de las importaciones por concepto de leche y vacas de reemplazo se calcula anualmente entre 3 y 4 mil millones de pesos. Por lo anterior resalta la importancia de los trabajos que se hagan con el objeto de evitar la fuga de divisas citada, lo que puede lograrse en parte, al evitar trastornos reproductivos que acortan la vida útil de las vacas y reducen la eficiencia en su producción.

La infertilidad está representada en gran parte-- por las vacas "repetidoras", que son aquellas que no conciben después de 3 ó más servicios, que presentan estros- regulares y que no tienen anomalías clínicas demostrables (23,26). Se señalan como principales causas de infertilidad a las siguientes:

- Genéticas, como son anomalías y malformaciones en -

- el tracto genital o de los gametos (2, 23).
- Nutricionales (1, 2, 24).
- Infecciones del tracto genital (1, 2, 24).
- Hormonales, en las que aparentemente el principal factor es la deficiencia de progesterona, que impide la implantación del cigoto (1, 2, 24).
- Mala observación de calores y mal tiempo de la inseminación (26).
- Errores en el procesamiento y manejo del semen (26).
- Presencia en el moco vaginal de anticuerpos contra espermatozoides (2, 7, 18, 19, 26).

Ante el elevado costo de manutención que representan las vacas repetidoras, los ganaderos recurren a procedimientos diversos, entre los que destaca la inseminación de las vacas lecheras (Bos taurus) con semen proveniente de sementales de razas cebuinas (Bos indicus), con lo que de acuerdo con una encuesta de campo, se logra la concepción en muchos casos.

El problema de la infertilidad inmunológica que se ha estudiado en humanos (7, 8, 18, 19, 20) y en otras especies animales, entre las que destacan los bovinos --- (2, 12, 14, 16), pudiera explicar la fertilización con es

permatozoides de especies diferentes, que presumiblemente contienen determinantes antigénicos diferentes y que no alcanzan a reaccionar con los anticuerpos antiespermatozoides que las vacas repetidoras de Bos taurus pudieran presentar en el fluido vaginal.

Tomando en cuenta que el fenómeno arriba mencionado pudiera explicar los resultados de las observaciones de campo, los objetivos de este trabajo comprenden:

- 1.- Determinar si hay vacas repetidoras que presentan anticuerpos antiespermatozoides en su fluido vaginal y que pudieran impedir la fertilización.
- 2.- Determinar la incidencia, dentro de las vacas repetidoras, de este fenómeno.
- 3.- Proporcionar una explicación inmunológica que aclare el porqué con semen de Bos indicus (ce bá), se logra la fertilización de algunas vacas repetidoras de Bos taurus

permatozoides de especies diferentes, que presumiblemente contienen determinantes antigénicos diferentes y que no alcanzan a reaccionar con los anticuerpos antiespermatozoides que las vacas repetidoras de Bos taurus pudieran presentar en el fluido vaginal.

Tomando en cuenta que el fenómeno arriba mencionado pudiera explicar los resultados de las observaciones de campo, los objetivos de este trabajo comprenden:

- 1.- Determinar si hay vacas repetidoras que presentan anticuerpos antiespermatozoides en su fluido vaginal y que pudieran impedir la fertilización.
- 2.- Determinar la incidencia, dentro de las vacas repetidoras, de este fenómeno.
- 3.- Proporcionar una explicación inmunológica que aclare el porqué con semen de Bos indicus (ce bá), se logra la fertilización de algunas vacas repetidoras de Bos taurus

MATERIAL Y METODOS

Material Biológico

Para la realización de este trabajo se tomaron -- muestras de fluido vaginal de vacas Holstein, de tres establos cuyas condiciones de manejo eran similares y la inseminación artificial es práctica común. Los establos se encuentran localizados en la cuenca lechera del Valle de México; dos de ellos en el área de Texcoco, Edo. de México y el otro en el área de Coapa, D.F.

Se obtuvieron muestras de los siguientes grupos:

a) De 50 vacas repetidoras, escogiendo a las que más número de servicios habían necesitado por gestación, y cuyo promedio de servicios por gestación era de 6.9

b) De 50 vacas que habían tenido 3 ó más gestaciones y que únicamente habían necesitado un servicio por -- gestación, incluyendo algunas que en alguna ocasión necesitaron 2 servicios. El promedio de servicios por gestación en este grupo fue de 1.12.

El momento de la toma de la muestra fue independiente de la etapa del ciclo estral o estado de gestación en que se encontraban los animales de los 2 grupos antes mencionados. Las muestras fueron obtenidas del tercio anterior de la vagina empleando guantes de plástico desechables.

c) De 50 vaquillas que no hablan sido inseminadas y que por lo tanto no hablan tenido contacto con espermatozoides. Las muestras de este grupo fueron tomadas, en los días en que las vaquillas se encontraban en estro, ya que en ellas la obtención de fluido vaginal es difícil en vista de la estrechez de su tracto genital.

- Se utilizaron gamma-globulinas de bovino, obtenidas a partir de un suero normal, como antígeno para elaborar un suero hiperinmune.
- 2 Conejos se inocularon para elaborar el suero hiperinmune anti gamma-globulina bovina.
- Espermatozoides obtenidos de eyaculados de toros Holstein (Bos taurus) y de Cebú (Bos indicus), se utilizaron como antígenos en las pruebas de inmunofluorescencia, en la de microespermaglutinación y en la elaboración de un suero hiperinmune.

- Se utilizó una vaca Holstein para elaborar un suero hiperimmune anti espermatozoides de Holstein.

METODO

Elaboración del conjugado

Se obtuvieron gamma-globulinas de un suero normal de bovino, por medio de la precipitación con sulfato de sodio, según la técnica descrita por Kurczyn y col. (13). Después de su precipitación, diálisis y centrifugación se guardaron congeladas a -20°C en alícuotas de 1 ml. hasta su uso. Para preparar el inóculo, 1 ml. de estas gamma-globulinas fue emulsificado en adyuvante completo de ---- Freund, volumen a volumen, e inoculadas por vía intramuscular a 2 conejos, siguiendo el esquema de inmunización--descrito por Garza y col. (6). Los conejos recibieron 5--inoculaciones, una semanalmente y se sangraron 15 días --después de la última inoculación, para la colección del --suero hiperimmune. El día de la cuarta inoculación se obtuvieron muestras de sangre de los dos conejos y por me--dio de la prueba de precipitación de Outcherlong, descri--ta por Romano y col (22), se determinó la presencia de anticuerpos anti gamma-globulina de bovino. Del suero hi--perimmune que se obtuvo de los conejos, se precipitaron--las gamma-globulinas con sulfato de amonio, se dializaron

se determinó la cantidad de proteínas que contenían, y -- posteriormente se conjugaron las gamma-globulinas con isotiocianato de fluoresceína (5, 21). Ya conjugadas, se -- dializaron para eliminar el exceso de isotiocianato de -- fluoresceína y una vez eliminado se guardaron en ampollitas de 1 ml., que se congelaron a -20°C hasta su uso --- (5, 21).

Para la elaboración del suero hiperinmune antiespermatozoides, se obtuvo de un toro Holstein un eyaculado de buenas características y se guardó en alícuotas de 1 ml a -20°C . Estas alícuotas se emulsificaron, volumen a volumen, en adyuvante completo de Freund y se inocularon en una vaca Holstein, intramuscularmente, siguiendo el esquema de inmunización para la elaboración de un suero hiperinmune descrito por Garza y col (6). Para comprobar-- que se habían obtenido anticuerpos antiespermatozoides, -- se utilizaron eyaculados de varios toros Holstein y se -- realizó con ellos la prueba de microespermoaglutinación de Franklin-Dukes (17).

Se colectaron eyaculados de toros Holstein (Bos taurus) y de Cebú (Bos indicus) siguiendo la técnica de la vagina artificial (27). Los espermatozoides de estos-

eyaculados se lavaron y suspendieron en solución salina, obteniendo una concentración final de 10×10^6 espermatozoides por ml. Después se depositó una gota de esta suspensión de espermatozoides en portaobjetos y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez secos se fijaron-- en metanol absoluto durante 30 minutos según lo describió Brogaard (3). Ya fijos se guardaron en congelación a ---
-20°C hasta su uso.

Para realizar la prueba de inmunofluorescencia se separaron los anticuerpos de cada una de las muestras de moco vaginal haciendo diluciones de 1/2 con solución salina de Gey, de acuerdo con la técnica descrita por Parish- (20). Posteriormente se hizo una dilución 1/2 de los sobrenadantes que se obtuvieron en el paso anterior, quedando de esta forma una dilución real, con respecto a la --- muestra original, de 1/4.

El conjugado fue titulado usando diluciones en tablero, del suero hiperinmune anti espermatozoides de Holsteín, así como del moco vaginal de una vaquilla virgen.

La técnica de inmunofluorescencia que se siguió-- fue semejante a la descrita por Brogaard (3) y Granados - (9). Esta técnica consistió en descongelar las lamini---

llas que contenían los espermatozoides fijos. Estos espermatozoides fueron cubiertos con diluciones 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256 del fluido vaginal, y se incubaron en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos, se lavaron por 10 minutos en solución buffer de fosfatos p.H. 7.5 posteriormente en agua corriente por 3 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar. Después se les cubrió con la dilución óptima del conjugado y se incubaron nuevamente en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos, después de lo cual se lavaron igual que se menciona en el paso anterior. Ya secas las laminillas, se montaron con cubreobjetos colocados sobre glicerina bufferada p.H. --- 9.2 y se observaron en un microscopio Zeiss con lámpara de fluorescencia. En la lámpara se utilizó un filtro ultravioleta BG 12 y filtros de barrera -65 y 47 en los oculares.

Se tomaron algunas fotografías de los resultados de la prueba de inmunofluorescencia, utilizando una película Ektachrome de 64 ASA y un tiempo de exposición de 2 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSION

La figura # 1, muestra una de las fotografías de los espermatozoides fluorescentes, en los que se empleó el conjugado en la dilución 1/15 que resultó ser la óptima.

Según se observa en el cuadro # 1, 32% de las vacas repetidoras presentaron en el moco vaginal anticuerpos contra espermatozoides de Holstein (Bos taurus) y en los otros dos grupos (vacas no repetidoras y becerras vírgenes) no se detectaron estos anticuerpos.

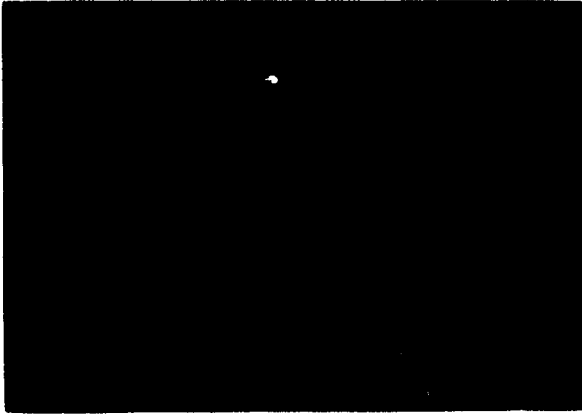
El cuadro # 2, indica que los títulos finales detectados a través de inmunofluorescencia indirecta, iban de 1/8 hasta 1/128 en los animales que resultaron positivos. En el mismo cuadro se señalan los resultados cuando espermatozoides de Bos indicus se emplearon como antígenos, con el objeto de determinar si tenían características antigénicas similares y en este caso solamente se observaron 4 animales con títulos de 1/4 (2 de ellos tuvie-

con para Bos taurus títulos de 1/128 y los otros 2 de --- 1/16).

El cuadro # 3, indica los resultados obtenidos en 15 vacas repetidoras Holstein, que después de un promedio de 6.33 inseminaciones fallidas con espermatozoides de -- Bos taurus, 13 quedaron gestantes a la primera inseminación con espermatozoides de Bos indicus y 6 de estas últimas mostraron anticuerpos en el moco vaginal contra espermatozoides de Bos taurus. El porqué a 7 de estas 13 vacas repetidoras no se les detectaron anticuerpos contra espermatozoides en su moco vaginal, puede ser debido al estado fisiológico en el que se encontraban al momento de tomar la muestra, así como al tipo de inmunoglobulinas -- que se encontraban presentes, o porque su infertilidad -- era debida a otras causas.

Varios autores han estudiado la presencia de anticuerpos contra espermatozoides en el suero (14, 16, 17, - 18). Sin embargo, Matousek (15) y Parish (20), han determinado que estos anticuerpos pueden ocurrir en forma natural y que no impiden la fertilización por estar ausentes en el tracto genital, ya que para presentarse en este último, se necesita que haya habido un estímulo antigénico-

FIGURA 1



FOTOGRAFIA QUE DEMUESTRA LA PRESENCIA DE
ANTICUERPOS ANTI-ESPERMATOZOIDES DE
Bos taurus A TRAVES DE INMUNOFLOU-
RESCENCIA INDIRECTA

CUADRO 1

ANTICUERPOS CONTRA ESPERMATOZOIDES DE Bos taurus DETECTADOS EN EL
MOCO VAGINAL DE VACAS MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

GRUPOS	NUMERO DE CASOS	NEGATIVAS*	POSITIVAS**	% DE POSITIVAS
REPETIDORAS	50	34	16	32
NO REPETIDORAS	50	50	0	0
VIRGENES	50	50	0	0

* TITULO MENOR 1:8

** TITULO 1:8 O MAYOR

CUADRO 2

TITULO DE ANTICUERPOS CONTRA ESPERMATOZOIDES DETECTADOS EN EL MOCO VAGINAL

TITULOS	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	T O T A L
---------	-----	-----	------	------	------	-------	-----------

ESPERMATOZOIDES DE:

<u>Bos taurus</u>	0	2	8	2	2	2	16
-------------------	---	---	---	---	---	---	----

<u>Bos indicus</u>	4	-	-	-	-	-	4
--------------------	---	---	---	---	---	---	---

CUADRO 3

RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS VACAS REPETIDORAS DE Bos^s taurus AL SER
INSEMINADAS CON SEMEN DE Bos indicus

	NUMERO DE ANIMALES
INSEMINADOS	15
GESTANTES AL PRIMER SERVICIO	13
POSITIVOS EN LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA	6*
NEGATIVOS EN LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA	9**

* LAS 6 VACAS QUEDARON GESTANTES

** 7 DE ESTAS QUEDARON GESTANTES

a nivel local (10, 20). Parish y col. (20) desde 1967 establecieron que los niveles de anticuerpos en el moco vaginal contra un antígeno, no están siempre relacionados con los del suero, ya que en ocasiones se detectan anticuerpos contra el antígeno en el suero y no en el moco vaginal y/o viceversa.

Matousek (15), en su revisión bibliográfica de 1972, mencionó que el espermatozoide normal es de hecho un antígeno que presenta varios determinantes antigénicos, y que también lo es el líquido seminal. El espermatozoide puede inducir entonces una respuesta inmunológica humoral a nivel local, lo que provocaría una respuesta de anticuerpos específicos.

Según Bratanov (2) hay varias condiciones que favorecen la presentación de la respuesta inmunológica humoral contra los espermatozoides y entre ellas citó:

1. La isoimmunización, que se presenta al inseminar vacas recién paridas y que por lo tanto no presentan aun la involución uterina.
2. El Inseminar vacas cuando sufren endometritis latente crónica.

3. La inseminación de vacas cuando presentan metrorragias.

En los tres casos antes mencionados, hay alteraciones de la mucosa uterina, lo que ocasiona una gran ---
afluencia de macrófagos a la zona y los que al fagocitar al espermatozoide constituyen el primer paso requerido para que se presente la respuesta inmunológica.

Hay otros factores que influyen haciendo que el espermatozoide sea más antigénico y por lo tanto que se presente más fácilmente la respuesta inmunológica. Uno de ellos es la utilización en inseminación artificial de diluentes del semen que son altamente antigénicos como la yema de huevo o la leche. La yema de huevo, se une íntimamente al espermatozoide, recubriéndolo y dándole una nueva configuración antigénica (2,10). Según Griffin y col. (10), en vacas inseminadas artificialmente con semen diluido en yema de huevo, se detectaron anticuerpos contra la yema de huevo en gran número de ellas y que el título de estos anticuerpos estaba en relación directa con el número de inseminaciones que habían recibido. Además, el 93.4% de los animales que presentaron anticuerpos contra la yema de huevo en el moco vaginal, repitieron en calor después de ser inseminadas artificialmente, mientras--

que del grupo control, que no presentó estos anticuerpos, sólo el 52% repitió en calor, resultado que fue diferente en forma significativa después del análisis estadístico.

Bratanov (2), ha apuntado también que en algunos casos como respuesta a la presencia de yema de huevo en el semen o de otros antígenos o haptenos, entre los que se pueden incluir a antibióticos como la penicilina y la estreptomycin se presenta una reacción alérgica que puede impedir la fertilización.

La mayoría de los antígenos del espermatozoide, según Matousek (15), están localizados en el acrosoma, -- que es la fuente de hialuronidasa y que Katsh y Katsh --- (12) demostraron que es específica de especie. A esto se puede deber el porqué los anticuerpos producidos contra espermatozoides de Holstein (Bos taurus) no sean capaces de reaccionar contra los espermatozoides de Cebú [Bos indicus], según se puede observar en el cuadro # 2, siendo posible de esta forma que las vacas repetidoras que presentan anticuerpos contra espermatozoides de Bos taurus, queden gestantes al ser inseminadas con espermatozoides-- provenientes de animales Bos indicus.

La combinación de anticuerpos contra espermatozoides, los puede afectar al disminuir su metabolismo considerablemente (15), o al aglutinarlos, impidiendo su libre tránsito a través del tracto genital femenino, o también al lesionar su membrana, lo que les acarrearía la muerte y/o impedirle su capacidad de fertilización. Este impedimento en su capacidad de fertilización, puede ser debido a la inhibición que sufre la hialuronidasa, presente en el acrosoma, al reaccionar con sus anticuerpos específicos (4), impidiendo así la penetración del óvulo por el espermatozoide.

Los resultados de este trabajo permiten sugerir -- que en las vacas de razas especializadas en la producción de leche, se haga una prueba serológica hacia el día 15 -- después del parto para determinar si en su moco vaginal -- hay anticuerpos contra espermatozoides y en caso de resultar positivo, se insemine con espermatozoides de Bos indicus (Cebú). Sin embargo, dado que las explotaciones pecuarias lecheras no siempre tienen acceso a este tipo de diagnóstico, que requieren optimizar sus recursos desde -- el punto de vista económico, y tomando en cuenta el elevado costo de manutención por animal, a nivel práctico sería recomendable realizar la inseminación con semen de --

Bos indicus (cebu), en todas las vacas que no hayan quedado gestantes hacia el tercer servicio. Además, los F₁ resultantes de las cruces de estas dos especies (Holstein y Cebu) tienen una gran demanda en las explotaciones pecuarias tropicales.

Se espera que con este trabajo y los subsecuentes que se realicen sobre este tema, se resuelvan parcialmente los problemas provocados por la infertilidad, que ocasionan que en nuestro país el porcentaje de reemplazo ---- anual de las vacas lecheras sea de alrededor del 33%, con las consiguientes pérdidas económicas debidas a su corta vida productiva, mientras que en países más desarrollados que el nuestro con material genético similar, los índices de reemplazo son menores, lo que les permite tener promedios de 6 ó más lactancias por animal.

Queda por último recomendar que se realicen trabajos para determinar:

- A. Si los anticuerpos producidos por las vacas reproductoras contra espermatozoides de Holstein, son capaces de reaccionar contra los espermatozoides de otras razas de Bos taurus.

- B. La presencia, en el moco vaginal, de anticuerpos contra yema de huevo que pudieran impedir la fertilización.
- C. Si hay diluentes del semen que sean menos antigénicos que los que se utilizan actualmente.
- D. Si vacas repetidoras que presentan anticuerpos contra espermatozoides diluidos en yema de huevo, no los presentan contra espermatozoides homólogos diluidos en leche, pudiendo en esta forma quedar gestantes con espermatozoides provenientes de toros de su misma raza.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El objeto del trabajo fue detectar en el moco vaginal de vacas repetidoras, anticuerpos contra espermatozoides de Holstein (Bos taurus), que pudieran impedir la fertilización, así como demostrar que los anticuerpos contra espermatozoides de Bos taurus no reaccionan con los de Bos indicus y de esta forma explicar porqué algunas de las vacas repetidoras Holstein (Bos taurus) quedan fácilmente gestantes cuando se inseminan con semen de Cebú --- (Bos indicus).

Para la detección de los anticuerpos se utilizó la prueba de inmunofluorescencia indirecta.

Se emplearon 150 muestras de moco vaginal de 3 lotes de vacas y cada uno de ellas con el mismo número de animales. El primer lote estaba formado por vacas repetidoras, el segundo por no repetidoras y el tercero por becerras vírgenes.

El 32% de las vacas repetidoras presentaron anticuerpos contra espermatozoides de Bos taurus en títulos - que iban desde 1/8 hasta 1/128. En los otros 2 grupos no se detectaron anticuerpos contra espermatozoides.

De los 16 animales que resultaron positivos contra espermatozoides de Bos taurus, cuando se probaron contra espermatozoides de Bos indicus sólo 4 de ellos presentaron anticuerpos y únicamente en la dilución 1/4.

En base a los resultados anteriores, 15 vacas repetidoras que no habían quedado gestantes tras un promedio de 6.33 servicios, fueron inseminadas con semen de -- Cebá (Bos indicus) y 13 de ellas quedaron gestantes al -- primer servicio.

Con los resultados obtenidos se puede inferir que los espermatozoides de Bos taurus y los de Bos indicus presentan determinantes antigénicos diferentes, lo que permite explicar el porqué algunas vacas Holstein repetidoras quedan gestantes cuando son inseminadas con espermatozoides de Bos indicus.

Se sugieren medidas que permitan disminuir los -- porcentajes actuales de infertilidad en el ganado bovino-

especializado en la producción de leche e incrementar la vida productiva de las vacas lecheras mexicanas, acercándola a la que alcanzan países más desarrollados que el -- nuestro, con material genético similar.

Por último se recomiendan trabajos subsecuentes-- que habrán de permitir que a nivel práctico se tomen medidas que resuelvan los problemas provocados por la infertilidad inmunológica.

B I B L I O G R A F I A

1. Baldwin, S. Recientes estudios sobre principios Hormo-
nales para la Reproducción Animal. Memorias del 1er.
Simposium Nacional de Reproducción Animal. México, --
D.F. 1969. pág. 115-128.
2. Bratanov, K. Immunology of Sterility. Memorias del VI
Congreso Internacional de Reproducción Animal e Inse-
minación Artificial. París, Francia. 1968. pag. 497,-
510.
3. Biogaard, K: Immunofluorescent Studies on Mammalian -
Spermatozoa. Antigenic Relationship Between Human, --
Bull and Rabbit Spermatozoa. J. Reprod. Fert. 29: ---
19-28 (1972)
4. Cinader, B: Enzyme Immunology Sonderdruck aus Beh---
ringwer Mitteilungen Heft. 47: 16-34 (1967)
5. Garza, C.A.R. Detección del Virus de Gastroenteritis-
Trasmisible por Medio de Anticuerpos Fluorescentes en

Cerdos Recuperados de la Infección Natural. Tesis Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, - D.F. 1973.

6. Garza, J., Rlos, M.E. y Arriola, J: *Proteínas Plasmáticas Sanguíneas en Leche de Vacas con Mastitis*. *Not. Med. Vet.* 4: 391-400 (1974)
7. González, J.T., Naranjo, R. y Guizar, J. *Fracciones Antigénicas de Espermatozoides Humanos*. *Memorias del Congreso Mundial de Fertilidad y Esterilidad*. Estocolmo, Suecia. 1966. pag. 397-426.
8. Grادل, T. and Mettler, L; *Crossed Immunoelectrophoresis of Sperm Antibodies in Human Serum and Cervical--Mucus*. *Int. J. Fert.* 20:50-54 (1975)
9. Granados, J.L. *Detección de Anticuerpos contra Toxoplasma gondi en Cerdos mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta*. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D.F. 1975.
10. Griffin, J., Nunn, W. and Hartigan, P: *An Immune Response to Egg-yolk in Dairy Cows*. *J. Reprod. Fert.* 25: 193-198. (1971)

11. Instituto Nacional de la Leche, S.A.R.H. Datos proporcionados por el Departamento de Estadística, correspondientes a 1976.
12. Katsh, S. and Katsh, G.F.: Antigenicity of Spermatozoa. *J. Fert. Steril.* 12: 522-537 (1961)
13. Kurczyn, G., Garza, J., Olgún, F. y Quintana, F.: -- Efecto de la adición de Calostro de Suero Sanguíneo, Albúmina y Gamma-globulinas en Lechones. *Veterinaria Méx.* 7: 124-131 (1976).
14. Mates, N. and Boitar, I. Immunobiological Aspects in Repeat Breeder Cows. *Memorias del 20. Congreso Mundial de Reproducción Animal e Inseminación Artificial Munich, Alemania, 1972.* pág. 727-733.
15. Natousek, J: Polymorphic and Antigenic substances in the Fertility of Farm Animals. *Animal Blood Groups -- and Biochemical Genetics. A. Review.* 1:213-227 (1970)
16. Menge, A: Induced Infertility in Cattle by Iso-Immunitization with Semen and Testis. *J. Reprod. Fert.* 13: -- 445-456 (1967).

17. Mettler, L. and Gradl, T: *Difficulty of Obtaining Reproducibility in the Franklin-Dukes test for detection of Sperm agglutinating Antibodies in Human Sera.* J. Reprod. Fert. 44: 217-221 (1975)
18. Mettler, L., Scheidel, P. and Shirwani, D. *Sperm Antibody Production in Female Sterility.* Int. J. Fert. -- 19: 7-12 (1974).
19. Naranjo, R. y Guizar, J. *Factores Inmunológicos de la Esterilidad. Memorias de la XV Reunión Nacional de Ginecología y Obstetricia.* México, D.F. 1968. pág. 1.
20. Parish, W., Carron-Brown, J. and Richards, C.: *The detection of Antibodies to Spermatozoa and to Blood Group Antigens in Cervical Mucus.* J. Reprod. Fert. -- 13: 469-483 (1967).
21. Reyes, J.J. *Resultado de la Utilización de un Conjugado Fluorescente contra Bronquitis infecciosa de las aves frente al Virus de Gastroenteritis de los Cerdos.* Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. --- U.N.A.M. México, D.F. 1976.
22. Romano, P., Veldázquez, A. y Olgún F: *Relaciones Antígenicas del virus de la Bronquitis Infecciosa de las*

- Aves con el de la Gastroenteritis Trasmisible de los-Cerdos. *Veterinaria Méx.* 6:38-47 (1975).
23. Ruiz Díaz, R. El Problema de la Vaca Repetidora. *Memorias del Primer Simposium Nacional de Reproducción -- Animal.* México, D.F. 1969. pag. 55-68.
24. Talavera, J.C., de la Fuente, G. y Berruecos, J.M.: - Pérdidas Económicas por Problemas Reproductores. III-Edad y Causas por las que son desechadas en México -- las Vacas Lecheras Estabuladas. *Técnica Pecuaria en-México* 24: 21-32 (1973)
25. Torres Torija, J.L. Purificación del Virus de Gastroenteritis Trasmisible del Cerdo por Cromatografía en-Columna y su Utilización para preparar un Conjugado - Fluorescente Específico. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D.F. 1976.
26. Zemjanis, R. The Problem of Repeat Breeding in Cattle Conferencia dictada en los Laboratorios Norden, S.A. México, D.F. 1972.
27. Zemjanis, R. Reproducción Animal: Diagnóstico y Técnica Terapéutica. Editorial Limusa. México, D.F. 1975.